مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

بررسی ویژگی‌های شیمیایی و فعالیت ضدمیکروبی عصاره متانولی ترشک بر باکتری‌های *انتروباکتر ائروژنز*، *سالمونلا تیفی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *استرپتوکوکوس پیوژنز*: یک مطالعه آزمایشگاهی

محمد نوشاد[1*]، بهروز علیزاده بهبهانی[1]

۱- استادیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۲/۱۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۴/۰۶

کلمات کلیدی:

گیاه ترشک،

عصاره متانولی،

فعالیت ضدمیکروبی،

اثر آنتی‌اکسیدانی،

ترکیب زیست فعال.

DOI: 10.52547/fsct.18.08.09

* مسئول مکاتبات:

noshad@asnrukh.ac.ir

چکیده

در سال‌های اخیر توجه ویژه‌ای به داروهای با منشأ گیاهی معطوف شده است. گیاهان دارویی دارای ترکیبات متنوعی هستند که قابلیت پوشش طیف وسیعی از اثرات درمانی را دارا می‌باشند. در این پژوهش، عصاره متانولی گیاه ترشک به روش خیساندن تهیه شد و محتوای فنول کل، فلاونوئید کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی (مهار رادیکال آزاد DPPH و ABTS) و خاصیت ضدمیکروبی (دیسک دیفیوژن، چاهک آگار و حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی) آن در برابر باکتری‌های *انتروباکتر ائروژنز*، *سالمونلا تیفی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *استرپتوکوکوس پیوژنز* بررسی گردید. عصاره متانولی ترشک حاوی محتوای فنول کل ۹۱/۹۰ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم و فلاونوئید کل ۴۸/۶۰ میلی‌گرم کوئرستین در گرم بود. نتایج فعالیت آنتی‌اکسیدانی نشان داد که عصاره متانولی قادر به مهار رادیکال‌های آزاد DPPH (۶۹/۵۸ درصد) و ABTS (۸۰/۵۹ درصد) می‌باشد. غلظت‌های بالای عصاره از رشد میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه جلوگیری نمود و باکتری‌های *انتروباکتر ائروژنز* و *استافیلوکوکوس اورئوس* به ترتیب مقاوم‌ترین و حساس‌ترین باکتری‌ها در برابر عصاره متانولی ترشک بودند. بنابراین، عصاره متانولی ترشک می‌تواند بعنوان ترکیبی مؤثر در کنترل عفونت‌های باکتریایی و اکسایش ترکیبات لیپیدی معرفی گردد.

۱- مقدمه

استفاده بی‌رویه و عوارض جانبی ناشی از داروهای شیمیایی تمایل به مصرف گیاهان دارویی به علت دسترسی بیشتر، قیمت مناسب و عوارض جانبی کمتر را افزایش داده است [۱]. گیاهان دارویی غنی از ترکیبات زیست فعال (ازجمله پلی فنول‌ها، کاروتنوئیدها و فلاونوئیدها) با اثرات درمانی بر روی برخی بیماری‌ها مانند بیماری‌های گوارشی، دیابت و سرطان می‌باشند [۲]. از سوی دیگر ترکیبات زیست فعال موجود در گیاهان دارویی به دلیل ایجاد خاصیت آنتی‌اکسیدانی این مواد را به جایگزینی مناسبی برای آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی تبدیل می‌کند. همچنین خاصیت کشندگی و مهارکنندگی آن‌ها بر روی طیف گسترده‌ای از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و مولد فساد، استفاده از این مواد طبیعی را افزایش داده است [۳].

گیاه ترشک (*Rumex alveollatus L.*) متعلق به خانواده *Polygonaceace* بوده که در مناطق کوهستانی ایران رشد می‌کند. این گیاه دارای برگ‌های پهن، آبدار و ترش مزه‌ای است و در ماه‌های اول و دوم فصل بهار می‌روید. از زمان‌های گذشته از گل و برگ گیاه ترشک جهت درمان سوختگی، گزیدگی و کوفتگی استفاده می‌شود [٤]. گیاه ترشک در کشت‌زارها، چمن‌زارها، کنار جاده‌ها و رودخانه‌ها به صورت وحشی رشد می‌کند. دمنوش این گیاه در کاهش قند، کلسترول و تری گلیسیرید خون مؤثر می‌باشد. همچنین این گیاه در تقویت عملکرد معده، کبد و قلب نقش داشته و در سم‌زدایی و دفع عفونت ناشی از بیماری نیز اثر بخش می‌باشد [۵]. در طب سنتی از این گیاه برای درمان اسهال، مشکلات گوارشی، تب و التهاب، سرطان‌ها و تومورها استفاده می‌شود. گیاهان خانواده *Polygonaceace* حاوی مقادیر زیادی فنیل پروپان گلیکوزید، فلاونوئید و پلی‌ساکارید می‌باشند. علاوه بر این، ویتامین‌های C، A و B، کاروتنوئید، ترکیبات فنولی، اسیدهای آلی مانند اگزالیک اسید و مالیک اسید، ترپانوئیدها و مواد معدنی مانند کلسیم، منیزیم، روی و آهن از جمله ترکیبات موجود در این گیاه می‌باشد [۱]. فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی عصاره‌های آلی ترشک در مطالعه مرادی و همکاران (۱۳۹۳) گزارش شده است [٤].

با توجه به ویژگی‌ها و ترکیبات موجود در گیاه ترشک، هدف از این پژوهش تهیه عصاره متانولی این گیاه و تعیین میزان فنول، فلاونوئید، خاصیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضدمیکروبی آن بر روی تعدادی از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و عامل فساد بود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد شیمیایی

معرف فولین- سیوکالچو، گالیک اسید، کوئرستین، DPPH و ABTS از شرکت سیگما (آمریکا) و محیط‌های کشت مولر هینتون، دیسک بلانک و محلول تری‌فنل‌تترازولیوم از شرکت مرک (آلمان) تهیه شدند.

۲-۲- سویه‌های میکروبی

باکتری‌های *انتروباکتر ائروژنز*، *سالمونلا تیفی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *استرپتوکوکوس پیوژنز* از کلکسیون میکروبی گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان تهیه گردید.

۲-۳- تهیه عصاره متانولی

پس از جمع‌آوری، تمیز کردن و تأیید گیاه ترشک، گیاه در هوای آزاد توسط نور خورشید خشک گردید. سپس ۲۰۰ گرم از گیاه پودر شده با متانول ۸۰ درصد مخلوط و به مدت ۷۲ ساعت هم زده شد. پس از عبور محلول از فیلتر، حلال آلی با استفاده از اواپراتور چرخشی (حداکثر دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد) خارج گردید. در انتها، پودر استخراج شده در ظروف درب دار در دسیکاتور حاوی سیلیکاژل تا زمان انجام آزمون‌های شیمیایی و ضد میکروبی نگهداری شد [٦].

۲-٤- تعیین میزان فنول کل

میزان فنول کل عصاره با استفاده از معرف فولین- سیوکالچو و استفاده از استاندارد گالیک اسید تعیین گردید. در این آزمون ۱ میلی‌لیتر عصاره (۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) به ظرف حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. سپس ۵ میلی‌لیتر معرف فولین- سیوکالچو اضافه و محلول به خوبی هم زده شد. پس از گذشت ۸ دقیقه، ۱۵ میلی‌لیتر محلول سدیم کربنات (۲۰ درصد) به آن‌ها اضافه و حجم نهایی با استفاده از آب مقطر به ۱۰۰ میلی-

لیتر رسید. بعد از نگهداری محلول به مدت ۲ ساعت، جذب نمونه در طول‌موج ۷٦۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید. مقدار فنول کل بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره گزارش شد [۷].

۲-۵- تعیین میزان فلاونوئید کل

اندازه‌گیری فلاونوئید کل طبق روش مهرنیا و همکاران (۱٤۰۰) انجام شد. به این ترتیب که ۱ میلی‌لیتر عصاره به ۷۵ میکرولیتر نیتریت سدیم ۵ درصد و ۱/۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. پس از گذشت ٦ دقیقه ۱۵۰ میکرولیتر آلومینیوم تری کلراید به آن اضافه گردید. نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه در تاریکی نگهداری شدند و سپس ۱ میلی‌لیتر سود ۱ مولار به آن‌ها اضافه شد. جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۵۱۰ نانومتر اندازه‌گیری شد [۸].

۲-٦- تعیین میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی

از دو روش مهار رادیکال آزاد DPPH و مهار رادیکال آزاد ABTSبه منظور اندازه‌گیری خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی گیاه ترشک استفاده شد.

۲-٦-۱- اندازه‌گیری مهار رادیکال آزاد DPPH

در این روش، به لوله‌های آزمایش حاوی ۱۰۰ میکرولیتر عصاره، ۳/۹ میلی‌لیتر محلول متانولی DPPH ۰/۱ میلی‌مولار اضافه گردید. پس از مخلوط شدن ، نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و در تاریکی نگهداری شدند. از محلول‌های به کار گرفته شده بدون عصاره به عنوان نمونه کنترل و از متانول جهت صفر کردن دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده گردید. جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد. درصد مهارکنندگی رادیکال DPPH با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید:

Free radical scavenging (%) =
(A blank- A sample)/ A sample ×100

که در این رابطه A sample جذب محلول DPPH پس از واکنش با غلظت مشخصی از عصاره و A blank جذب محلول DPPH با متانول می‌باشد [۹].

۲-٦-۲- مهار رادیکال آزاد ABTS

در این روش ابتدا رادیکال‌های آزاد ABTS تهیه گردید. بدین ترتیب که محلول آبی با غلظت ۷ میلی‌مولار ABTS در آب تهیه گردید و با افزودن پتاسیم پرسولفات غلظت نهایی به ۲/٤۵ میلی‌مولار رسید. محلول تهیه شده به مدت ۱٦ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در محل تاریکی نگهداری شد. رادیکال‌های کاتیونی ABTS تولید شده تا رسیدن به جذب ۰/۰۲ ± ۰/۷ در طول‌موج ۷۳٤ نانومتر با استفاده از متانول رقیق گردید. در ادامه، ۳۰۰ میکرولیتر از عصاره متانولی به ۳/۹ میلی‌لیتر محلول کاتیونی رادیکال ABTS اضافه شد. پس از ۵ دقیقه نگهداری محلول جذب آن ثبت گردید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره مطابق رابطه زیر محاسبه گردید [۱۰]:

Free radical scavenging (%) =
(A blank- A sample)/ A sample ×100

که در این رابطه A sample جذب محلول ABTS پس از واکنش با غلظت مشخصی از عصاره و A blank جذب محلول بلانک می‌باشد.

۲-۷- تعیین خاصیت ضدمیکروبی عصاره

۲-۷-۱- دیسک دیفیوژن

بدین منظور ابتدا غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره تهیه و با استفاده از فیلترهای ۰/۲۲ میکرون استریل گردید. سپس دیسک‌های بلانک استریل به مدت ۲۰ دقیقه در هر یک از غلظت‌ها قرار داده شد. پس از تهیه سوسپانسیون میکروبی دیسک‌های آغشته شده به عصاره روی محیط کشت مولر هینتون آگار تثبیت گردید. پلیت‌ها به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری و قطر هاله-های عدم رشد اطراف دیسک‌ها با خط کش اندازه‌گیری شد [۱۱].

۲-۷-۲- چاهک آگار

در این روش سوسپانسیون‌های میکروبی (معادل استاندارد ۰/۵ مک فارلند) با استفاده از میله L شکل در سطح محیط مولر هینتون آگار کشت داده شد. سپس با استفاده از انتهای پیپت پاستور ٤ چاهک با قطر ٦ میلی‌متر در سطح محیط‌های کشت ایجاد شد. پس از گرمخانه‌گذاری پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲٤ ساعت قطر هاله‌های عدم رشد اطراف هر یک از چاهک‌ها بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد [۱۲].

۲-۷-۳- اندازه‌گیری حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی

پس از تهیه رقت‌های متوالی عصاره متانولی گیاه ترشک با استفاده از محیط کشت مولر هینتون براث (۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰، ۳۰۰، ۳۵۰ و ۴۰۰)، ۱۰۰ میکرولیتر از هر یک از رقت‌های تهیه شده عصاره متانولی به چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه‌ای حاوی ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی (استاندارد ۰/۵ مک فارلند) اضافه گردید. پس از گذشت یک شبانه روز در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، ۱۰ میکرولیتر از معرف تری‌فنل‌تترازولیوم[1] (۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به چاهک‌ها اضافه شد. پس از گرمخانه‌گذاری به مدت ۳ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد کمترین غلظتی که در آن هیچگونه رشد و تغییر رنگی مشاهده نشد، به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی گزارش گردید. جهت تعیین حداقل غلظت کشندگی، ۱۰۰ میکرولیتر از هر یک از چاهک‌های بدون تغییر رنگ بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری گردید. غلظت‌های فاقد رشد باکتری، به عنوان حداقل غلظت کشندگی گزارش شد [۱۳].

۲-۸- آنالیز آماری

تمامی آزمون‌های این پژوهش در سه تکرار انجام شدند. تجزیه و تحلیل نتایج با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۸ انجام شد و از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($p<0.05$) جهت تشخیص معنی‌دار بودن اختلاف بین میانگین‌ها استفاده گردید.

۳- نتایج و بحث

ترکیبات فنولی در گیاهان خوراکی و غیرخوراکی یافت می‌شوند و دارای اثرات بیولوژیکی متنوعی می‌باشند [۱۴]. این مواد آنتی‌اکسیدانی دارای قدرت احیاکنندگی، هیدروژن دهندگی و سرکوبگری اکسیژن یگانه بوده و اهمیت آن‌ها برای رژیم غذایی انسان و خواص ضدمیکروبی این ترکیبات گزارش شده است [۱۵]. در این پژوهش، مقدار فنول کل عصاره متانولی گیاه ترشک برابر با ۹۱/۹۰ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره و مقدار فلاونوئید کل آن برابر با ۴۸/۶۰ میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره به دست آمد (شکل ۱). در پژوهشی مقدار فنول کل برای عصاره اتانولی گونه‌ای از گیاه ترشک (*Rumex acetosella*) ۶۹/۲۱ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره گزارش شد است [۱۶]. همچنین میزان فنول کل برای عصاره‌های آبی، متانولی و استونی گیاه ترشک (*Rumex scutatus*) به ترتیب ۳۷/۲، ۵۹/۷ و ۴۲/۲ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره و مقدار فلاونوئید کل آن‌ها به ترتیب ۱۷/۲، ۴۰/۲ و ۹/۲ میلی‌گرم روتین در گرم عصاره گزارش شده است [۱۷]. تفاوت میزان فنول و فلاونوئید کل در مطالعات مختلف به دلیل تفاوت در شرایط آب و هوایی و جغرافیایی محل رشد مانند ارتفاع محیط، مقدار آب و نوع خاک می‌باشد. همچنین روش‌های مختلف اندازه‌گیری نیز در اختلاف میان این ترکیبات مؤثر می‌باشد [۱۰].

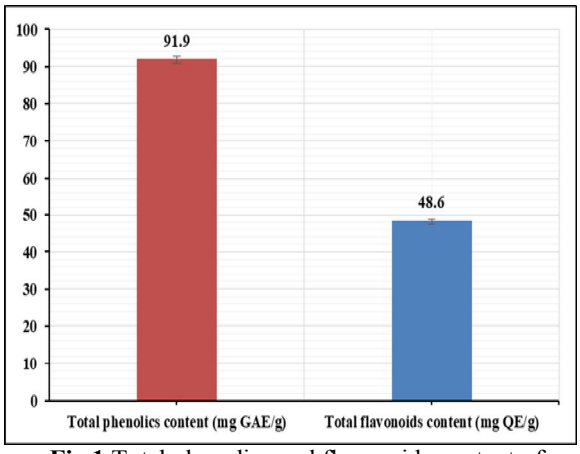

Fig 1 Total phenolics and flavonoids content of *Rumex alveollatus* methanolic extract.

میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در شکل ۲ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود میزان این خاصیت در روش مهار رادیکال DPPH و مهار رادیکال ABTS به ترتیب برابر با ۶۹/۵۸ و ۸۰/۵۹ درصد می‌باشد. ایسبیلیر و ساگیروگلو (۲۰۱۳) خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی گونه *Rumex acetosella* را به روش‌های مختلف از جمله مهار رادیکال آزاد DDPH اندازه‌گیری و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالای گیاه را به مقادیر بالای فنول آن نسبت دادند [۱۶]. مرادی و همکاران (۱۳۹۳) در بررسی عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه ترشک میزان

1. Triphenyltetrazolium chloride

فنول و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی را بیشتر از عصاره آبی و بیشترین ماده آلی موجود در نمونه را ترکیبات فلاونوئیدی گزارش کردند [٤]. در مطالعه دیگری فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالای گونه *Rumex crispus* به مقادیر بالای ترکیبات فنولی آن نسبت داده شده است [۱۸].

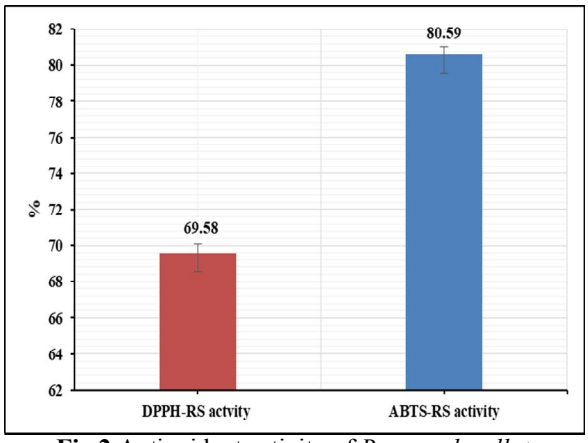

Fig 2 Antioxidant activity of *Rumex alveollatus* methanolic extract.

نتایج آزمون دیسک دیفیوژن در شکل ۳ آورده شده است. در غلظت ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره متانولی در باکتری‌های *انتروباکتر ائروژنز*، *سالمونلا تیفی* و *استرپتوکوکوس پیوژنز* هیچگونه هاله عدم رشدی مشاهده نشد که نشان از مقاومت این باکتری‌ها به این غلظت عصاره می‌باشد. همچنین در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر نیز در باکتری *انتروباکتر ائروژنز* هاله‌ای مشاهده نشد. در باکتری *انتروباکتر ائروژنز* هاله‌های عدم رشد در غلظت‌های ۱۵۰ و ۲۰۰ گرم در میلی‌لیتر دارای اختلاف معنی‌داری بودند. در باکتری‌های *سالمونلا تیفی* و *استرپتوکوکوس پیوژنز* هاله‌های ایجاد شده در غلظت‌های ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر دارای اختلاف معنی‌داری با یکدیگر بودند. همچنین در باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در تمامی هاله‌های ایجاد شده در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. به‌طور کلی، می‌توان نتیجه گرفت که در بین باکتری‌های مورد بررسی *انتروباکتر ائروژنز* مقاوم‌ترین باکتری و *استافیلوکوکوس اورئوس* حساس‌ترین باکتری به عصاره متانولی گیاه ترشک می‌باشد.

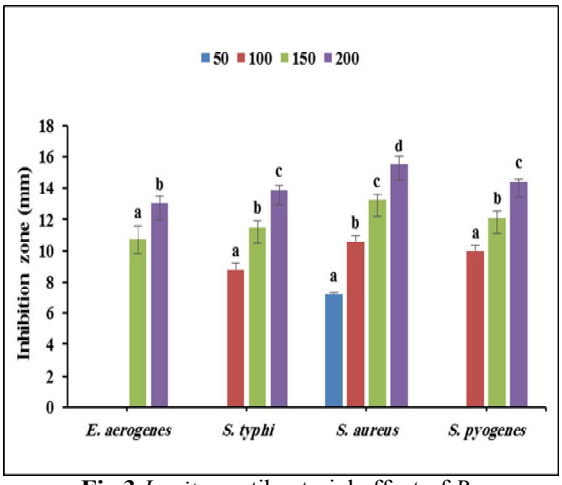

Fig 3 *In vitro* antibacterial effect of *Rumex alveollatus* methanolic extract based on disk diffusion agar method.

نتایج آزمون چاهک آگار در شکل ٤ نشان داده شده است. مطابق نتایج، در باکتری‌های *انتروباکتر ائروژنز* و *سالمونلا تیفی* در غلظت ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر هیچگونه هاله عدم رشدی تشکیل نشد. هاله‌های عدم رشد در غلظت‌های ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ گرم در میلی‌لیتر در باکتری‌های *انتروباکتر ائروژنز* و *سالمونلا تیفی* دارای اختلاف معنی‌داری با یکدیگر بودند.

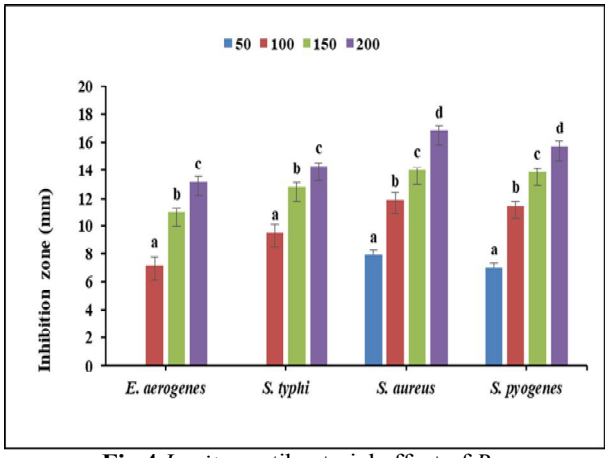

Fig 4 *In vitro* antibacterial effect of *Rumex alveollatus* methanolic extract based on well diffusion agar method.

همچنین هاله‌های ایجاد شده در تمامی غلظت‌ها در باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *استرپتوکوکوس پیوژنز* اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. در این آزمون نیز همانند روش دیسک دیفیوژن باکتری‌های *انتروباکتر ائروژنز* و *استافیلوکوکوس اورئوس*

به ترتیب مقاوم‌ترین و حساس‌ترین باکتری‌ها در برابر عصاره متانولی ترشک می‌باشند. نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی (جدول ۱) نشان می‌دهد که کمترین غلظت مهارکنندگی (۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) مربوط به *استافیلوکوکوس اورئوس* و بیشترین غلظت (۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) مربوط به *انتروباکتر ائروژنز* می‌باشد. از این‌رو *استافیلوکوکوس اورئوس* حساس‌ترین و *انتروباکتر ائروژنز* مقاوم‌ترین باکتری به شمار می‌آیند. همچنین باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* با کمترین غلظت کشندگی (جدول ۱) حساس‌ترین باکتری و *انتروباکتر ائروژنز* با بیشترین غلظت کشندگی مقاوم‌ترین باکتری به عصاره متانولی می‌باشد.

مطابق با نتایج این پژوهش در مطالعات مختلف نشان داده شده است که باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی به عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی حساس‌تر می‌باشند که علت آن اختلاف در ساختمان دیواره این دو نوع باکتری بیان شده است [۱۹ و ۲۰]. غشای خارجی محکم باکتری‌های گرم منفی پیچیده و غنی از لیپوساکارید بوده که منجر به محدودیت انتشار ترکیبات ضدمیکروبی می‌شود. در حالی که دیواره باکتری‌های گرم مثبت از پپتیدوگلیکان ضخیم و غیر متراکم تشکیل شده که مقاومت چندانی در برابر مولکول‌های ضدمیکروبی از خود نشان نمی‌دهد [۲۱].

Table 1 *In vitro* antibacterial effect of *Rumex alveollatus* methanolic extract based on minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration methods

Microorganism type	Minimum inhibitory concentration (mg/mL)	Minimum bactericidal concentration (mg/mL)
E. aerogenes	200	> 400
S. typhi	100	400
S. aureus	50	200
S. pyogenes	100	200

در مقایسه اندازه قطر هاله‌ها در روش دیسک و چاهک، بزرگ‌تر بودن قطر هاله‌ها در روش چاهک را می‌توان به تماس مستقیم عصاره با میکروارگانیسم‌ها در این روش نسبت داد. در حالی که در روش دیسک دیفیوژن ترکیب ضدمیکروبی پس از عبور از دیسک به سطح محیط کشت انتقال می‌یابد که فاکتورهایی مانند زمان و دما در رهایش آن‌ها مؤثر می‌باشد [۲۲]. اثرات ضدمیکروبی گونه‌های گیاه ترشک در پژوهش‌های مختلف بررسی شده است [٤، ۱۸، ۲۳ و ۲٤]. خاصیت ضدمیکروبی عصاره ترشک با استفاده از ۲ روش چاهک آگار و حداقل غلظت کشندگی بررسی و گزارش گردید که عصاره این گیاه بر تمامی میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه (باکتری گرم مثبت، باکتری گرم منفی و قارچ) دارای اثر ضدمیکروبی بوده و در این بین باکتری‌های گرم مثبت از حساسیت بیشتری برخوردار می‌باشند [۲۵]. در مطالعه دیگری اثر ضدمیکروبی عصاره‌های متانولی و اتانولی گیاه ترشک جمع‌آوری شده در استان لرستان مورد بررسی قرار گرفت و گزارش گردید که هر دو عصاره تهیه شده دارای خاصیت ضدمیکروبی قابل‌توجهی بر روی باکتری‌های *سودوموناس ائروژینوزا* و *استافیلوکوکوس اورئوس* می‌باشند [۲٦].

٤- نتیجه‌گیری

گیاه ترشک از زمان‌های گذشته بخاطر مزه ترش آن مورد توجه بوده و مصرف خوراکی داشته است؛ با اینحال، اطلاعات محدودی در مورد جنبه‌های دارویی آن در منابع علمی وجود دارد. نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره متانولی گیاه ترشک غنی از ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل‌توجه می‌باشد. علاوه بر این، عصاره متانولی ترشک از طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌های عامل عفونت و فساد در شرایط برون‌تنی جلوگیری نمود. بنابراین، نتایج این مطالعه می‌تواند اهمیت گیاه دارویی ترشک را بیشتر از گذشته نشان دهد و عصاره متانولی این گیاه قابلیت استفاده جهت پیشگیری از طیف وسیعی از بیماری‌های التهابی، سیستم ایمنی و عفونی را دارا می‌باشد.

۵- تقدیر و تشکر

نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به دلیل حمایت‌های مادی و معنوی صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

۶- منابع

[1] Tohidpour, R., Nouri, S., Hazrati, H., amniattalab, A., mikaili, P. and ayremlou, P., 2020. The Effect of Hydroalcoholic Extract of Rumex scutatus and Cerasus vulgaris on Blood Glucose, Lipids and Histopathology of Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *Journal of Medicinal Plants, 18*(72), pp.174-185.

[2] Alizadeh Behbahani, B., Falah, F., Lavi Arab, F., Vasiee, M. and Tabatabaee Yazdi, F., 2020. Chemical composition and antioxidant, antimicrobial, and antiproliferative activities of Cinnamomum zeylanicum bark essential oil. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, *2020*, pp.1-8.

[3] Hojjati, M. and Alizadeh Behbahani, B., 2020. Evaluation of the effect of aqueous and methanolic extraction methods on the antioxidant and antimicrobial characteristics of Allium jesdianum extract: in vitro study. *Iranian Food Science and Technology Research Journal, 17*(1), pp. 83-91.

[4] Moradi, A., Ebrahimipour, G., Karkhane, M. and Marzban, A., 2015. Surveying the antioxidant and the antimicrobial effects of aqueous and ethanolic extract of Rumex alveollatus L. on in-vitro indicator microorganisms. *Journal of Fasa University of Medical Sciences*, *4*(4), pp.418-426.

[5] Nursabaghi, F., Abedinzade, M. and Jalallou, N., 2016. Evaluation the effect of Rumex alcoholic extract against cutaneous leishmaniasis caused by Leishmania major in Balb/c mice. *Razi Journal of Medical Sciences, 23*(148), pp.28-35.

[6] Alizadeh Behbahani, B., Tabatabaei Yazdi, F., Noorbakhsh, H., Riazi, F., Jajarmi A. and Tabatabaei Yazdi, F., 2016. Study of the Antibacterial Activity of Methanolic and Aqueous Extracts of *Myrtus communis* on Pathogenic Strains Causing Infection, *Zahedan Journal of Research in Medical* Sciences, 18(2), pp.1-7.

[7] Huda-Faujan, N., Noriham, A., Norrakiah, A.S. and Babji, A.S., 2009. Antioxidant activity of plants methanolic extracts containing phenolic compounds. *African Journal of Biotechnology, 8*(3), pp.484-489.

[8] Mehrnia, M.A., Alizadeh Behbahani, B., Barzegar, H. and Tanavar, H., 2021. Sclerorhachis platyrachis essential oil: Antioxidant power, total phenolic and flavonoid content and its antimicrobial activity on some Gram-positive and Gram-negative bacteria “in vitro”. *Food Science and Technology, 18*(112), pp.189-198.

[9] Omeidi Myrzai, M., Hojjati, M., Alizadeh Behbahani, B. and Noshad, M., 2020. Determination of chemical composition, antioxidant properties and antimicrobial activity of coriander seed essential oil on a number of pathogenic microorganisms. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, *16*(2), pp.221-233.

[10] Sosani Gharibvand, Z., Alizadeh Behbahani, B., Noshad, M. and Jooyandeh, H., 2020. Investigation of the Functional Groups of Bioactive Compounds, Radical Scavenging Potential, Antimicrobial Activity and Cytotoxic Effect of Callistemon Citrinus Aqueous Extract on Cell Line HT29: A Laboratory Study. *Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences, 19*(5), pp.463-484.

[11] Behbahani, B.A., Yazdi, F.T., Vasiee, A. and Mortazavi, S.A., 2018. Oliveria decumbens essential oil: Chemical compositions and antimicrobial activity against the growth of some clinical and standard strains causing infection. *Microbial pathogenesis*, *114*, pp.449-452.

[12] Behbahani, B.A. and Fooladi, A.A.I., 2018. Antibacterial activities, phytochemical analysis and chemical composition Makhlaseh extracts against the growth of some pathogenic strain causing poisoning and infection. *Microbial pathogenesis*, *114*, pp.204-208.

[13] Yeganegi, M., Yazdi, F.T., Mortazavi, S.A., Asili, J., Behbahani, B.A. and Beigbabaei, A., 2018. Equisetum telmateia extracts: Chemical compositions, antioxidant activity and antimicrobial effect on the growth of some

pathogenic strain causing poisoning and infection. *Microbial pathogenesis*, *116*, pp.62-67.

[14] Kähkönen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H.J., Rauha, J.P., Pihlaja, K., Kujala, T.S. and Heinonen, M., 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of agricultural and food chemistry*, *47*(10), pp.3954-3962.

[15] Proestos, C., Chorianopoulos, N., Nychas, G.J. and Komaitis, M., 2005. RP-HPLC analysis of the phenolic compounds of plant extracts. Investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity. *Journal of agricultural and food chemistry*, *53*(4), pp.1190-1195.

[16] Isbilir, S.S. and Sagiroglu, A., 2013. Total phenolic content, antiradical and antioxidant activities of wild and cultivated Rumex acetosella L. extracts. *Biological agriculture & horticulture*, *29*(4), pp.219-226.

[17] Savran, A., Zengin, G., Aktumsek, A., Mocan, A., Glamoćlija, J., Ćirić, A. and Soković, M., 2016. Phenolic compounds and biological effects of edible Rumex scutatus and Pseudosempervivum sempervivum: potential sources of natural agents with health benefits. *Food & function*, *7*(7), pp.3252-3262.

[18] Yıldırım, A., Mavi, A. and Kara, A.A., 2001. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of Rumex crispus L. extracts. *Journal of agricultural and food chemistry*, *49*(8), pp.4083-4089.

[19] Noshad, M., Hojjati, M. and Behbahani, B.A., 2018. Black Zira essential oil: Chemical compositions and antimicrobial activity against the growth of some pathogenic strain causing infection. *Microbial pathogenesis*, *116*, pp.153-157.

[20] Alizadeh Behbahani, B., Tabatabaei Yazdi, F., Heidari Sureshjani, M., Mortazavi, A. and Tabatabaei Yazdi, F., 2014. Antimicrobial Effect of the Aqueous and Ethanolic Satureja bachtiarica Extracts " in vitro". Iranian *Journal of Infectious Diseases, 19*(64), pp.13-20.

[21] Shahidi, F., Yazdi F, T., Roshanak, S., Behbahani, B.A., Norouzi, N. and Vasiee, A., 2019. Antimicrobial Activity of Lepidium draba Extract on some Pathogenic Microorganisms “in vitro”. *Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine, 24*(85), pp.1-9.

[22] Shahidi, F., Yazdi F, T., Roshanak, S., Behbahani, B.A., Vasiee, A. and Norouzi, N., 2019. Antimicrobial Activity of Taraxacum pseudocalocephalum Leaves Extract on Pathogenic Microorganisms and Comparison with Common Therapeutic Antibiotics in vitro. *Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine, 23*(83), pp.37-46.

[23] Wegiera, M., Kosikowska, U., Malm, A. and Smolarz, H.D., 2011. Antimicrobial activity of the extracts from fruits of Rumex L. species. *Central European Journal of Biology*, *6*(6), pp.1036-1043.

[24] Jeong, G.T., Lee, K.M. and Park, D.H., 2006. Study of antimicrobial and antioxidant activities of Rumex crispus extract. *Korean Chemical Engineering Research*, *44*(1), pp.81-86.

[25] Mhalla, D., Bouaziz, A., Ennouri, K., Chawech, R., Smaoui, S., Jarraya, R., Tounsi, S. and Trigui, M., 2017. Antimicrobial activity and bioguided fractionation of Rumex tingitanus extracts for meat preservation. *Meat Science*, *125*, pp.22-29.

[26] Mohammadi-Sichani, M., Sadeghzadeh, P. and Madani, M., 2013. Evaluation of Antibacterial Activity of Extract of Rumex alveollatus Leaf against Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, *15*(6), pp.58-61.

Iranian Journal of Food Science and Technology

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Investigation of chemical properties and antimicrobial activity of *Rumex alveollatus* methanolic extract on *Enterobacter aerogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, and *Streptococcus pyogenes*: An "*in vitro*" study

Noshad, M. [1]*, Alizadeh Behbahani, B. [1]

1. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.

ARTICIE INFO

Article History:

Received 2021/ 04/ 04
Accepted 2021/ 06/ 12

Keywords:

Rumex alveollatus,
Methanolic extract,
Antimicrobial activity,
Antioxidant effect,
Bioactive compound.

DOI: 10.52547/fsct.18.08.09

*Corresponding Author E-Mail:
noshad@asnrukh.ac.ir

ABSTRACT

In recent years, special attention has been devoted to plant-derived drugs. Herbal medicines contain versatile compounds with a vast range of therapeutic effects. In this study, methanolic extract of *Rumex alveollatus L.* was obtained thorough the maceration method, and its total phenol content, total flavonoid content, antioxidant activity (DPPH and ABTS radical scavenging methods) and antimicrobial property (disk diffusion agar, well diffusion agar, and minimum inhibitory/bactericidal concentration) against *Enterobacter aerogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, and *Streptococcus pyogenes* were evaluated. The methanolic extract of *Rumex alveollatus* contained 91.90 mg gallic acid/g total phenols and 48.60 mg quercetin/g total flavonoids. Antioxidant activity results showed that the extract was able to scavenge DPPH (69.58%) and ABTS (80.59%) free radicals. The growth of microorganisms was inhibited in the presence of high concentrations of the extract, and *E. aerogenes* and *S. aureus* were the most resistant and sensitive bacterial species to the methanolic extract of *Rumex alveollatus*. Therefore, *Rumex alveollatus* methanolic extract could be introduced as an effective compound in controlling bacterial infections and oxidation of lipid-based compounds.